

“UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO”



**FACULTAD DE INGENIERIA QUIMICA E INDUSTRIAS
ALIMENTARIAS**



Escuela Profesional de Ingeniería Química

**“EFECTO DE LAS MICROONDAS SOBRE LA ESTABILIDAD DE LA
CASEÍNA EN LECHE DE VACA”**

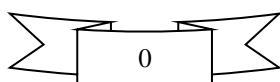
Tesis para optar el título de Ingeniero Químico

AUTOR: Bachiller Mejía Fustamante Karla del Rocío

ASESORA: Dra. Romero Guzmán Blanca Margarita

Lambayeque

2018



Dedicatoria

***Quiero dedicarles este trabajo
A Dios que me ha dado la vida y fortaleza
Para terminar este proyecto de vida
A mi padres por estar ahí cuando más los
Necesité; por Ayuda y constante cooperación***

Karla Mejía Fustamante

Agradecimiento

**Agradezco en primer lugar a Dios
Por prestarme vida y salud en segundo lugar
A mis padres por apoyarme incondicionalmente
En mis planes y a mi asesora por brindarme
Sus conocimientos y su paciencia**

RESUMEN

La presente investigación tiene como objetivo determinar el efecto del microondas sobre la estabilidad de la caseína en la leche de vaca para lo cual se utilizó de manera preliminar un ensayo de estabilidad proteica, luego un reconocimiento de proteínas por el método de Biuret y posteriormente una cuantificación de proteínas a 25°C por el método Sorensen y Walker obteniendo 1.17 gr de caseína (2.065%). Se tomaron cinco muestras de leche de 100ml cada una para ser sometido al microondas con tiempos de exposición de 10seg, 20seg., 30seg., 60seg. y 120seg. Midiendo la temperatura al término de los mismos, las cuales fueron de 29°C, 35°C, 44°C, 52°C y 77°C.

Al finalizar la exposición al microondas, se tomó tres alícuotas de diez mililitros de cada una de las muestras para determinar el porcentaje y cantidad de caseína total utilizando el método de Sorensen-Walker seguido de un aislamiento de caseína mediante una valoración ácido-base y adición de ácido acético 1M., concluyendo que la concentración de caseína total en la leche de vaca se ve afectada con el aumento temperatura dentro del microondas, de una concentración de 2.065% a 0.761% de caseína, afectando su valor nutricional.

Palabras clave:

Caseína, microondas y leche

ABSTRACT

The objective of the present investigation is to determine the effect of microwaves on the stability of casein in cow's milk, for which a protein stability test was used in a preliminary way, then a protein recognition by the Biuret method and subsequently a quantification of proteins at 25 ° c by the Sorensen and Walker method obtaining 1.17 gr of casein (2.065%). Five milk samples of 100ml each were taken to be subjected to microwaves with exposure times of 10sec, 20sec, 30sec, 60sec. and 120sec Measuring the temperature at the end of them, which were 29 ° C, 35 ° C, 44 ° C, 52 ° C and 77 ° C.

At the end of the microwave exposure, three aliquots of ten milliliters were taken from each of the samples to determine the percentage and amount of total casein using the Sorensen-Walker method followed by casein isolation by an acid-base titration and addition of 1M acetic acid, concluding that the concentration of total casein in cow's milk is affected by the increase in temperature inside the microwave, from a concentration of 2.065% to 0.761% of casein, affecting its nutritional value.

Keywords:

Casein, microwave and milk

Índice General

RESUMEN.....	i
ABSTRAC.....	ii
Índice General	5
I. INTRODUCCION.....	6
II. MARCO TEORICO	7
2.1. Antecedentes	7
2.2. Base Teórica.....	7
2.2.1. La leche de vaca	7
2.2.2. Norma oficial de la leche de vaca	8
2.2.3. Composición de la leche de vaca	9
2.2.4. Propiedades Físicas y químicas de la leche de vaca.....	10
2.2.5. Tipos de Proteínas de la leche vaca.....	10
2.2.6. Reconocimiento de las Proteínas	20
2.2.7. Desnaturalización de las Proteínas	24
2.2.8. Espectro electromagnético.....	25
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	28
3.1. Variables.	28
3.2. Hipótesis.	28
3.3. Diseño de Contrastación.	28
3.4. Muestra, Materiales y Reactivos.	29
3.5. Métodos empleados	29
3.5.1. Prueba de estabilidad proteica	29
3.5.2. Reconocimiento de proteínas con reactivo de Biuret.....	30
3.5.3. Método de Sorensen – Walker: cuantificación de proteínas	30
3.5.4. Aislamiento de caseína con ácido acético.	31
IV. RESULTADOS	32
4.1. Análisis de leche a temperatura ambiente (25°C)	32
4.1.1. Estabilidad proteica.	32
4.1.2. Del reactivo de Biuret.....	32
4.1.3. Método de Sorensen – Walker y Aislamiento de caseína	33
4.2. Análisis de leche a diferentes tiempos de exposición al microondas.....	34
V. DISCUSION.....	37
VI. CONCLUSIONES.....	38
VII. RECOMENDACIONES.....	38
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39
IX. ANEXOS.....	41
9.1. Proceso de experimentación.....	41

I. INTRODUCCION

La sociedad en la actualidad busca reducir el tiempo en sus quehaceres el cual hace de su vida cada vez más agitada.

La mujer moderna se encuentran con el inconveniente de tener que cumplir con el horario de trabajo y su rol de madre sobre todo aquella que tiene lactantes o niños con edad preescolar y utiliza leche de vaca para su alimentación la cual le obliga a guardarla en la refrigeradora para posteriormente calentarla en el microondas por su rapidez, desconociendo los efectos sobre la calidad de la leche.

Al respecto Pérez, *et al.* (2013) sostienen que el calentamiento en microondas de la leche de formula infantil suplementada con lactoferreína produce la pérdida de su actividad inmunoreactiva solo cuando se aplican potencias de 600 Watts durante largos periodos y mayores de 30 segundos. Kheder *et al* (2015) refieren que el promedio de concentraciones de grasa, proteína y lactosa disminuyen durante la exposición de leche de vaca en el microondas, especialmente a 120 segundos, constituyendo un riesgo como alimento.

La formulación del problema fue: ¿Cómo afecta el tiempo de exposición de la leche de vaca en el microondas a la estabilidad de la caseína?, la hipótesis: Las proteínas de la leche entre ellas la caseína pierde su estabilidad al ser calentadas en el microondas.

La presente investigación se realizó para lograr los objetivos siguientes: 1) Determinar el efecto del microondas sobre estabilidad de la caseína en la leche de vaca, 2) analizar contenido de caseína en la leche de vaca a temperatura ambiente, 3) calentar la muestra de leche en el microondas variando el tiempo de exposición y midiendo la temperatura alcanzada y 4) analizar la concentración de caseína al final del tiempo de exposición.

Con el fin de conocer como es afectada la caseína con el tiempo de exposición en microondas, ya que esta es una proteína de alto valor nutricional para el ser humano.

II. MARCO TEORICO

2.1. Antecedentes

Cretescu *et al* (2015) investigan la influencia de la radiación del microondas sobre las características fisicoquímicas de la leche cruda y concluyen que las grasas, proteínas, sustancias secas y concentración de lactosa disminuyen a medida que el tiempo de exposición en el microondas aumenta.

Kheder *et al* (2015) refieren que el promedio de concentraciones de grasa, proteína y lactosa disminuyen durante la exposición de leche de vaca en el microondas, especialmente a 120 segundos, constituyendo un riesgo como alimento.

Journal of Agricultural and Food Chemistry reporta que al calentar leche fresca o hervida en microondas durante 1 min. Produce una sustancia llamada acrilamida en una concentración 4000 partes por mil millones, resaltando que esta sustancia a una concentración mayor a 100 partes por millones es perjudicial para la salud.

Tornquist (2016) refiere que las personas que consumen lácteos previamente calentados en microondas de manera diaria, presentan cambios preocupantes los cuales fueron disminución en su hemoglobina, glóbulos blancos, aumento de colesterol y disminución de linfocitos.

Revista de Investigaciones Agropecuarias (RIA) (2017) reporta que las concentraciones de lactosa y proteína total de leche calentada por un min en microondas se reducían 0.25% más en comparación con la leche calentada en un caldero a 78°C

2.2. Base Teórica.

2.2.1. La leche de vaca

La leche es un alimento completo enriquecido con alto contenido nutricional, pero es un terreno fértil para el crecimiento microbiano. Es consumido directamente o utilizado en la preparación de muchos alimentos, tales como pasteles, tartas, entre otros (Meshref y Al-Rowaily, 2015).

2.2.2. Norma oficial de la leche de vaca

D.S. N°007-2017-MINAGRI y la Norma Técnica Peruana para leche y productos lácteos NTP 200.001-2003

- **Leche:** Es el producto íntegro de la secreción mamaria normal sin adición ni sustracción alguna y que ha sido obtenida mediante el ordeño.

- **Leche cruda entera:** Es el producto íntegro no alterado ni adulterado del ordeño higiénico, regular y completo de vacas sanas y bien alimentadas, sin calostro y exento de color, olor, sabor y consistencia anormales y que no ha sido sometido a procesamiento o tratamiento alguno.

- **Leche pasteurizada:** Es aquella que ha sido sometida a un tratamiento térmico específico y por un tiempo determinado, para lograr la destrucción total de los organismos patógenos que pueda contener, sin alterar en forma considerable su composición, sabor ni valor alimenticio.

- **Leche ultra pasteurizada:** Es la que ha sido sometida a un proceso rápido de alta temperatura, sin causar modificaciones considerables, en su composición, sabor, ni valor alimenticio, obteniéndose un producto comercialmente estéril.

- **Leche Higienizada:** Es aquella considerada como Leche, Leche cruda y Leche íntegra o entera que ha sido sometida a uno de los procesos de Leche pasteurizada, Leche ultra pasteurizada y Esterilización comercial.

Leche Homogeneizada: Es aquella que ha sido procesada de manera tal, que los glóbulos grasos han sido fragmentados a tal grado que después de 48 horas de mantener la leche en reposo, no ocurre ninguna separación visible de la crema.

- **Leche Adulterada:** leche a la que se le ha adicionado o sustraído, cualquier sustancia para variar su composición, peso o volumen, con fines fraudulentos o para encubrir cualquier defecto debido a ser de inferior calidad o tener la misma alterada.

- **Leche Alterada:** leche que durante su obtención, preparación, manipulación, transporte, almacenamiento o tenencia, y por causas no provocadas deliberadamente, hayan sufrido variaciones tales en sus características organolépticas, composición química o valor nutritivo, que

su aptitud para la alimentación haya quedado anulada o sensiblemente disminuida, aunque el producto se mantenga inocuo.

- **Leche Contaminada:** leche que contenga gérmenes patógenos, sustancias químicas o radioactivas, toxinas o parásitos capaces de transmitir enfermedades al hombre o a los animales.
- **Leche Falsificada:** leche en la que se haga concurrir alguna de las siguientes circunstancias:
 - que haya sido preparada o rotulada para simular otra.
 - que su composición real no corresponda a la declarada y comercialmente anunciada.
 - cualquier otra capaz de confundir al consumidor.
- **Leche Reconstituida:** Es el producto uniforme que se obtiene de la reintegración de agua a la leche en polvo, sea integra, semidescremada o descremada, agregándole o no grasa láctea deshidratada o sometiénola luego a higienización de forma que presente las mismas características de la leche líquida correspondiente.
- **Leche Recombinada:** mezcla de la leche cruda con la leche reconstituida en proporción no mayor al 30% de esta última, higienizada posteriormente y que presenta características fisicoquímicas y organolépticas similares a la de la leche correspondiente.

2.2.3. Composición de la leche de vaca

Tabla1
Composición en 100gr de leche de vaca

Componente	Valor	Unidad de medida
Agua	87.8	G
Energía	63	Kcal
Proteína	3.1	G
grasa	3.5-6.0	G
Carbohidratos (lactosa)	4.9	G

Nota. Recuperado de “Tablas peruanas de composición de alimentos” de Ministerio de salud, 2009, Citado por MINAGRI (2017).
ile:///C:/Users/USUARIO/ Downloads/ganaderia-lechera-2017%20(2).pdf.

2.2.4. Propiedades Físicas y químicas de la leche de vaca

- **Sabor:** la leche fresca tiene un sabor medio dulce, neutro debido a la lactosa que contiene.
- **Densidad de la leche:** Está relacionada con la combinación de sus diferentes componentes: el agua, la grasa, proteína, lactosa, minerales y Sólidos no grasos.
- **PH:** depende de la sanidad de la leche y de los microorganismos responsables de convertir la lactosa en ácido láctico
- **Acidez:** La determinación de la acidez de la leche es muy importante porque puede dar lugar a determinar el grado de alteración de la leche. Regularmente una leche fresca debe tener una acidez de 0.15 a 0.16%.

Tabla 2

Propiedades físicas y químicas de la leche de vaca

Parámetros	Valores
Densidad	1.028-1.032 g/ml
PH	6.6-6.8
Viscosidad abs	1.7-2.2 cp
Punto de ebullición	100.17 °C
Sólidos totales	12%
Punto de congelación	-0.513 a -0.565°C
Acidez	0.15-0.16%
Caseína	2.6%

Nota. Recuperado de "Tecnología de lácteos" http://infolactea.com/wp-content/uploads/2016/01/301105_LECTURA_Revision_de_Presaberes.pdf

Tabla3

Valores estándares de la leche de vaca

Parámetros	Valores
Densidad a 15°C	1.029-1.034g/ml
Acidez titulable como ácido láctico g/100g	0.13-0.17
Grasa (g/100g)	Min 3.2
Prueba del alcohol (74°)	No coagulable

Nota. Recuperado de reglamento de la leche y productos lácteos D.S. N°007-2017-MINAGRI

2.2.5. Tipos de Proteínas de la leche vaca

a) De la membrana del Glóbulo de grasa

Una cantidad relativamente pequeña se haya adsorbida en la película

que rodea a los glóbulos grasos, se le denomina proteínas de la membrana del glóbulo de grasa (Tabla 4), no se conocen muy bien la naturaleza de estas proteínas pero parece ser que algunas actividades enzimáticas de la leche se hayan localizadas allí.

Tabla 4
Composición de la membrana del glóbulo de grasa

Componentes	Porcentaje (%)
Carotenóides	0.3
Escualeno	0.4
Esteres del colesterol	0.54
Triglicéridos	36.12
Acidos grasos Libres	4.26
Colesterol	3.5
Diglicéridos	5.49
Monoglicéridos	3.14
Fosfolípidos	13.76
Total	67.51

Nota. Recuperado de Ciencia de los alimentos, por Potter *et al.* , 1995.

Existen dos clases de proteínas lácteas: caseína y lacto albúminas (todas globulares) que son retenidas en la leche tras la separación de los glóbulos grasos.

Tabla 5
Concentración de proteínas en la leche

Componentes	CC. de la proteína en la leche (g/kg)	porcentaje de proteína total p/p
Caseína		
α caseína	10	30.6
β Caseína	10.1	30.8
K caseína	3.3.	10.1
Total de caseína	23.4	71.5
Seroproteínas		
α lactoalbúmina	1.2	3.7
β lactoalbúmina	3.2	9.3
Inmunoglobulina	0.7	2.1
Otros	0.8	2.4
Total de seroproteínas	5.9	18.1
Total de proteínas	29.3	100

Nota. Recuperado <https://alimentosproteinas.com/leche>

Según la tabla 5 la leche de vaca contiene distintos tipos de proteína tales como:

b) La Caseína

La caseína es una proteína globular (Las proteínas globulares tienden a agregarse o precipitar en formas esferoidales) que constituye cerca del 80% del nitrógeno total de la leche de vaca. Por acción del cuajo o ácidos precipita, produciendo una masa coagulada llamada cuajada, que además de caseína, arrastra grasa, agua y algunas sales. Esta masa coagulada es la que después de prensada, salada y madurada se convertirá en el queso que todos conocemos, de ahí que la palabra caseína deriva de la palabra latina caesus, que quiere decir queso. La caseína es una fosfo-proteína, conteniendo, en su molécula, ácido fosfórico. Al PH de la leche, alrededor de 6.6, la caseína está presente como caseinato de calcio. Cuando la acidez de la leche se incrementa, por acción de la adición de ácido o por acidificación natural, el ácido remueve el calcio y el fosfato del caseinato de calcio, transformándolo en caseína. La caseína se coagula cuando el PH desciende a 5.2 y es menos soluble en su punto isoelectrico (PH 4.6).

La coagulación se reconoce por la formación de la cuajada. La caseína precipitada puede tornarse nuevamente soluble por la adición de calcio o una base. De hecho la caseína se purifica por su precipitación con ácido y disolución con bases por varias veces. A pesar que la caseína no se coagula comúnmente en el hervido, podrá haber coagulación, si la leche estuviera ligeramente ácida o si se emplean temperaturas tratamientos térmicos severos (Meshref y Al-Rowaily, 2015). Así la leche fresca ligeramente ácida tiene tendencia a coagular.

✓ **Composición Química de la caseína**

La composición química de la caseína es la misma para la leche de diversos animales que la producen.

Sobre esta composición, tres importantes investigadores alemanes, Goroup-Bezanes, Woelker y Hammarsten, han elaborado estudios sobre

Ello y basándose en dichos estudios se ha hecho una tabla con una composición general que oscila entre los siguientes datos:

Tabla 6
Composición Química de la Caseína

Componentes	Porcentaje (%)
Carbono	52.96-54
Hidrógeno	7.04-7.53
Nitrógeno	15.06-15.91
Oxígeno	21.90-22.78
Azufre	0.758-0.820
Fósforo	0.74-0.847

Nota. Recuperado de "La Caseína: contribución a su estudio Químico e Industrial" por Lanzarini, Pág.116, (2016).

✓ **Propiedades Fisicoquímicas de la caseína**

Se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 7
Propiedades fisicoquímicas de la caseína

Propiedades	Composición
Color	Blanco amarillento traslúcido
Olor	Ligero olor a queso
Forma	Amorfa
Insoluble	Agua, alcohol, éter, ácidos
Soluble	Soluciones diluidas. de amoniaco, potasa, soda
Agua	Disecada contiene entre 5-10%
Densidad aparente	450 Kg/m ³
Hidrosolubilidad	20.1g/l a 25°C
Punto isoeléctrico	A PH 4.7

Nota. Recuperado de "La Caseína: contribución a su estudio Químico e Industrial" por Lanzarini, Pág.116, (2016).

✓ **Reconocimiento de Tipo de caseína**

- **La electroforesis de proteínas**

Es una prueba de laboratorio que se utiliza para reconocer si la caseína es de tipo alfa, beta, gamma y kappa, basada en la separación de las mismas aplicando un campo eléctrico, las diferentes tipos de caseína se

Separarán en función de su peso molecular los cuales se presentan en la siguiente tabla

Tabla 8

Peso molecular de los tipos de caseína

Tipo de caseína	Peso molecular del monómero (g/mol)
Alfa s1	20.000
Alfa s2	25.000
Beta	24.000
Kappa	1.980

Nota. Recuperado de “Identificación y Caracterización de la caseína en leche y fórmulas lácteas”, por Herrera, L., Pág. 41, (2015).

Existen dos métodos electroforéticos más comunes. Uno que permite medir con precisión la “movilidad”, es la electroforesis en fase líquida, la migración se sigue en función del tiempo mediante un procedimiento óptico. La electroforesis de zona sobre soporte (banda de papel o acetato de celulosa, gel de almidón, etc.), permite poner de manifiesto las fracciones proteicas gracias a coloraciones específicas; la manipulación es mucho más simple que en el método precedente y exige menos cantidad de sustancia.

La movilidad electroforética es una característica importante de las proteínas; en general, se determina a pH 8.6 en solución tampón de veronal.

Las condiciones de la electroforesis, como pH, gradiente de potencial, naturaleza del tampón, concentración de sal, presencia de reactivos disociantes y otros, influyen en forma notoria en los resultados para que salgan correctamente y de manera nítida, tal y como se aprecia en la siguiente figura.

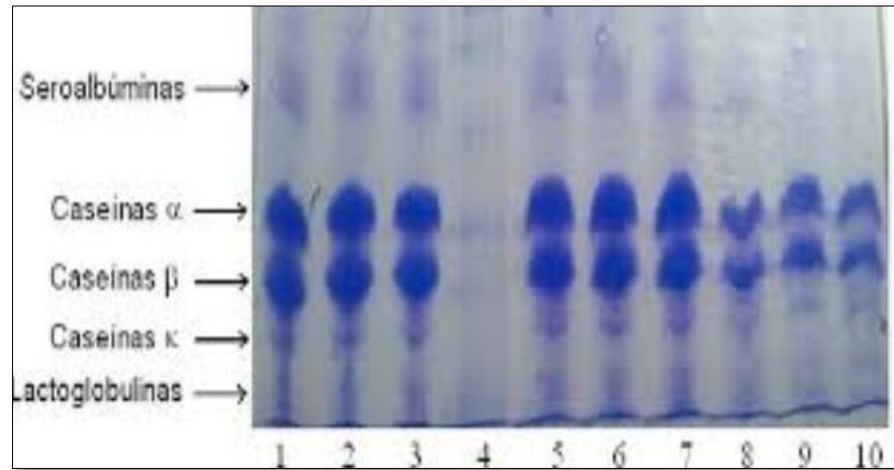


Figura 1. Observación de tipos de caseína por medio de Electroforesis.
Recuperado de Inmunología, por Lizano, Pág. 58, (2016)

✓ **Obtención del punto isoelectrico de la caseína**

- **Punto Isoeléctrico de las proteínas.**

Todas las macromoléculas de la naturaleza adquieren una carga cuando se dispersan en agua. Una característica de las proteínas y es que la carga total que adquieren depende del pH del medio.

Así, todas las proteínas tienen una carga neta dependiendo del pH del medio en el que se encuentren y de los aminoácidos que la componen, así como de las cargas de cualquier ligando que se encuentre unido a la proteína de forma covalente. Debido a la composición en aminoácidos de la proteína, los radicales libres pueden existir en tres formas dependiendo del pH del medio: catiónicos, neutros y aniónicos. Cualquier proteína tendría una carga neta positiva si se encuentra en un medio lo suficientemente ácido debido a que los grupos COOH de los aminoácidos aspártico y glutámico estarían en su forma neutra pero los grupos amino de Arginina y lysina estarían protonados ($-\text{NH}_3^+$).

De igual forma cuando la proteína tenga una carga neta negativa si se encuentra en un medio básico ya que en este caso los grupos carboxilo estarían desprotonados (COO^-) y los grupos amino estarían en su forma neutra (NH_2).

De lo anterior se deduce que las proteínas tienen un pH característico al cual su carga neta es cero. A este pH se le denomina punto isoelectrico (pI). En el punto isoelectrico (pI), se encuentran en el equilibrio las cargas positivas y negativas por lo que la proteína presenta su máxima

posibilidad para ser precipitada al disminuir su solubilidad y facilitar su agregación.

Si suponemos una proteína formada únicamente por aminoácidos sin grupos laterales ionizables la carga neta de la proteína dependería exclusivamente de la protonación / desprotonación de los grupos amino y carboxilo terminal. En la realidad las proteínas están formadas por multitud de aminoácidos unidos mediante enlaces peptídicos y la carga va a depender de los grupos ionizables que poseen los aminoácidos que la componen y del pH del medio.

Entonces como el punto isoelectrico de la caseína dependerá de múltiples aminoácidos se debe hacer varias pruebas, sometiendo a la caseína a distintos medios con un determinado PH producido por una mezcla de diferentes proporciones de: acetato 0.1 normal, Ácido Acético 0.1 normal y Ácido Acético 0.001 Normal dentro de un potenciómetro. Hallando así que el punto isoelectrico (PI) de la caseína se encuentra a un PH de 4.7

✓ **Métodos de obtención de caseína**

Los métodos de obtención tienen como base en la propiedad característica de la caseína que es su baja solubilidad. El pH de la leche es 6,6 aproximadamente, estando a ese pH la caseína está cargada negativamente y solubilizada como sal cálcica. Si se añade ácido a la leche (pH 4,6), la carga negativa de la superficie de la micela se neutraliza (los grupos fosfato se protonan) y la proteína neutra precipita.

- **Precipitación de la caseína mediante ácidos minerales, (ácido clorhídrico, sulfúrico, etc.):** este proceso se da calentando la leche a una temperatura que varía entre 35-40 °C y se precipita agregando ácido clorhídrico o ácido sulfúrico en la proporción de 2 a 4 % de leche total; cuando se calienta a una temperatura entre 50° a 60° C, la precipitación es más rápida, y más completa.

A más alta temperatura es más fuerte la cantidad de ácido empleado y con agitación constante, la caseína se separa más rápidamente formándose copos que se separan del suero.

Después de media hora de reposo se decanta el suero, se lava el precipitado dos o tres veces con agua tibia y luego con agua fría para

librarla lo más posible de los vestigios del ácido de las sales y azúcares de la leche atrapados en la masa. A continuación se pone a escurrir para separar el excedente de agua, obteniéndose así una caseína con un aproximado de 60% de agua.

- **Precipitación de la caseína mediante ácidos orgánicos, (ácido acético, láctico, etc.):** Los ácidos orgánicos generalmente preferidos son el acético y el láctico, en la proporción de 800 a 1000 ml por cada ml de leche luego se lleva a una temperatura que varía entre 40 a 42°C, con agitación constante hasta que forme copos separados del suero. Como en el caso anterior se sigue los mismos pasos hasta obtener caseína pura semiseca, con la única diferencia que al usar ácidos orgánicos la precipitación será más rápida que usar ácidos minerales, debido a que estos ácidos tienen sales como por ejemplo los cloruros los cuales retardan la precipitación de la caseína. Es por este motivo el uso de ácidos orgánicos es más común en la fabricación industrial de la caseína.

- **Precipitación de la caseína mediante el cuajo:** Se calienta, la leche a una temperatura que varía entre 35 a 40 °C y se agrega el cuajo líquido valorado de manera que se termina la coagulación en un tiempo de 10 a 15 min. Generalmente son suficiente de 20 a 30 ml de cuajo por 100 litros de leche. Una vez producida la coagulación se deja reposar la masa de 5 a 10 minutos se saca el suero totalmente y la masa se lava repetidas veces con agua fría agitando continuamente. Una vez lavada la masa se deja secar hasta obtener caseína semiseca.

✓ **Forma de la caseína en la leche de vaca**

En leche a la temperatura ambiente (25 °C), Una parte del calcio y del magnesio presentes, forman con la caseína un complejo que junto con las demás proteínas libres, se encuentran bajo la forma de una suspensión coloidal, formando micelas, su tamaño oscila desde unos 80 a 300 micrones μm y están formados por subunidades distintas de 10-20 micrones μm , asociadas entre si a través de puentes salinos de calcio o complejos de fosfato de calcio, como se aprecia en la figura 2 y3

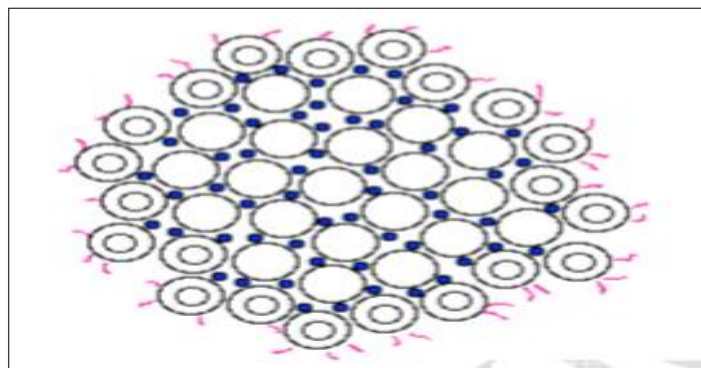


Figura 2. Forma de micela de caseína. Recuperado de Calidad de la leche, por Miralles de la Torre, Pág. 64, (2016)

Una micela o unidad soluble está formada por: formada por $\alpha(s1)$, $\alpha(s2)$ -caseína, β -caseína, y κ -caseína. Ni la alfa ni la beta caseína son solubles en la leche, solas o combinadas. Si se añade la kappa caseína a las dos anteriores o a cada una de ellas por separado se forma un complejo de caseína que es solubilizado en forma de micela. Esta micela está estabilizada por la kappa caseína mientras que el alfa y la beta son fosfoproteínas que precipitan en presencia de iones calcio.

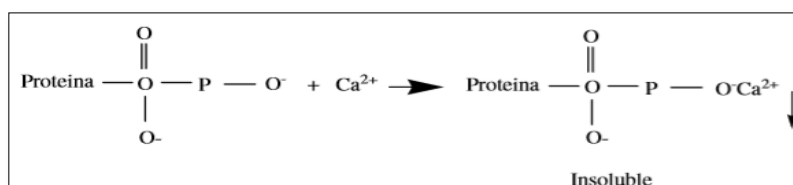


Figura 3. Reacción de fosfoproteína con iones de calcio. Recuperado de Química de los alimentos, por Cortez, Pág. 96, (2015).

La kappa caseína, sin embargo, tiene pocos grupos fosfato y un alto contenido de carbohidratos unidos a ella. También tiene todos sus residuos de serina y treonina con sus correspondientes grupos hidroxilo, así como los carbohidratos dispuestos en una sola cara de su superficie por lo que esta parte exterior es fácilmente soluble en agua gracias a los grupos polares que posee y la otra parte de su superficie se une fácilmente a las alfa y beta caseína insolubles, lo que da lugar a la formación de la micela, que microscópicamente se ve como en la siguiente figura:

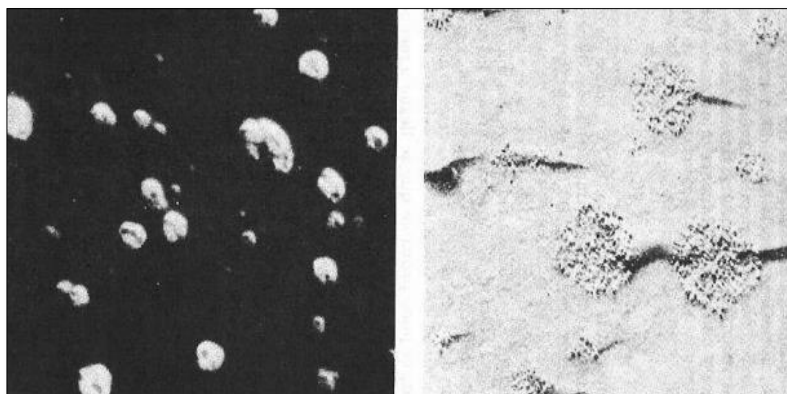


Figura 4. Vista microscópica de micela de caseína. Recuperado de Calidad de la leche, por Miralles de la Torre, Pág. 65, (2016)

✓ **Aplicaciones de la caseína**

Dentro de las principales aplicaciones que tiene la caseína, se encuentran:

- En la industria para la fabricación de pinturas especiales
- Clarificación de vino
- Elaboración de preparados farmacéuticos, la
- Fabricación de plásticos (botonería, peines y mangos de utensilios),
- Pinturas, la cual ha sido usada desde la antigüedad por los egipcios,
- Pegamento en relojería,
- Carpintería (recomendadas para maderas terciadas)

c) Seroproteínas

Son aquellas proteínas solubles en agua y soluciones diluidas en sales neutras, estas proteínas pueden ser precipitadas por la adición de ciertas sales y coaguladas por el calor. Cuando se calienta la leche, las seroproteínas forman un precipitado floculante que se sienta en el fondo y paredes del recipiente.

Las seroproteínas se clasifican en:

- **Alfa-lactoalbúmina.-** Está presente en un 4% de la proteína total de la leche, favorece la unión de la glucosa con la galactosa para la síntesis la lactosa. Se encuentra tanto en la leche de vaca como en la humana. Forma parte de la capa de nata que aparece en la superficie de la leche hervida y es termolábil frente a tratamientos térmicos severos.
- **Beta-lactoalbúmina.-** Es una proteína que no se encuentra en la leche humana, pero sí en la leche de vaca está presente en un 9% de la

proteína total, es termolábil y juega un papel muy importante en los tratamientos térmicos por ser responsable del sabor característico que adquiere la leche tratada térmicamente .

Cuando se hierva la leche, esta proteína forma parte de la capa de nata que aparece en la superficie.

- **Inmunoglobulinas.**- Está presente aproximadamente en un 2% de la proteína total de la leche de vaca.

2.2.6. Reconocimiento de las Proteínas

Mediante métodos que indican la cantidad de caseína y diferentes reacciones de coloración que se basan principalmente en la identificación de grupos estructurales de algunos de sus aminoácidos en particular, siendo las principales y más comunes las siguientes:

- **Método de Sorensen –Walker**

Determina el contenido de proteínas en la leche mediante una valoración ácido-base, ya que tras la adición de formol a la muestra, el formaldehído se une a los grupos amino de los aminoácidos de las proteínas dejando los grupos carboxilos libres. Este hecho produce cambios en la acidez titulable de la leche siendo valorada con hidróxido sódico. La cantidad de hidróxido sódico empleado en la neutralización es utilizado para calcular la cantidad de proteínas presente en la muestra.

- **Reacción de Nihnhidrina**

Esta reacción es específica para diferenciar carbohidratos de aminoácidos y proteínas. Reacciona con todos los α -aminoácidos contenidos en la proteína dando lugar a la formación de un complejo color purpura cuyo pH se encuentra entre 4 y 8, a excepción de la prolina e hidroxi-prolina que dan lugar a complejos de color amarillo.

Esta prueba es positiva tanto para proteínas como para aminoácidos.

Por ejemplo, en aquellos casos donde la prueba de Biuret es negativa y positiva la de Nihnhidrina, indica que no hay proteínas, pero si hay aminoácidos libres.

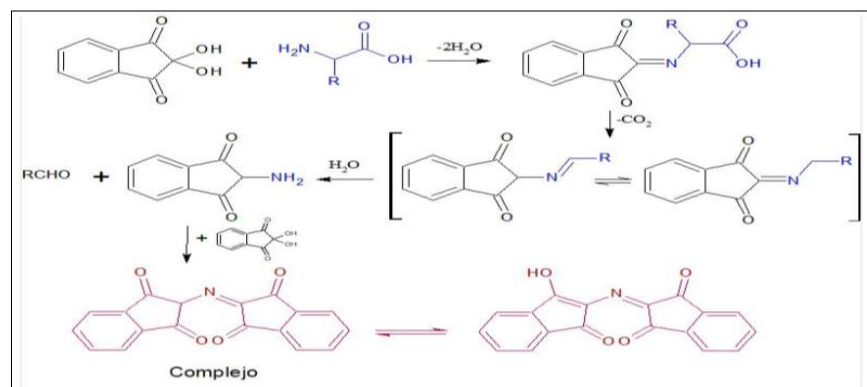


Figura 5. Reacción de un aminoácido con Nihnhidrina. Recuperado de <http://www.biochemden.com/color-reactions-of-amino-acids/>

- Reacción de Biuret.

Reactivo formado por una solución de sulfato de cobre en medio alcalino, éste reacciona con el enlace peptídico de las proteínas mediante la formación de un complejo de coordinación entre los iones Cu^{2+} y los pares de electrones no compartidos del nitrógeno que forma parte de los enlaces peptídicos, lo que produce Una coloración rojo-violeta dando como positiva la prueba.

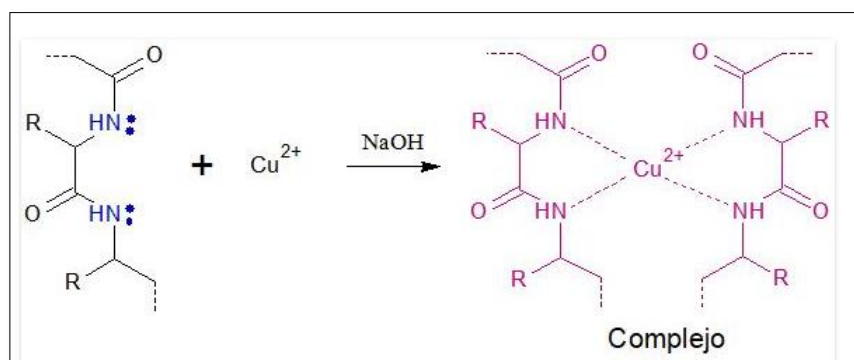


Figura 6. Reacción de una proteína con el reactivo de Biuret. Recuperado de <http://www.biochemden.com/color-reactions-of-amino-acids/>

- Reacción de Millon.

Este reactivo está formado por una mezcla de nitrito y nitrato mercúrico disuelto en ácido nítrico. Esta reacción se lleva a cabo con residuos fenólicos, es decir proteínas que contienen tirosina para la formación de nitrotirosina.

Las proteínas se precipitan por acción de los ácidos inorgánicos fuertes del reactivo, dando un precipitado blanco que se vuelve gradualmente rojo al calentar por formación de una sal mercúrica.

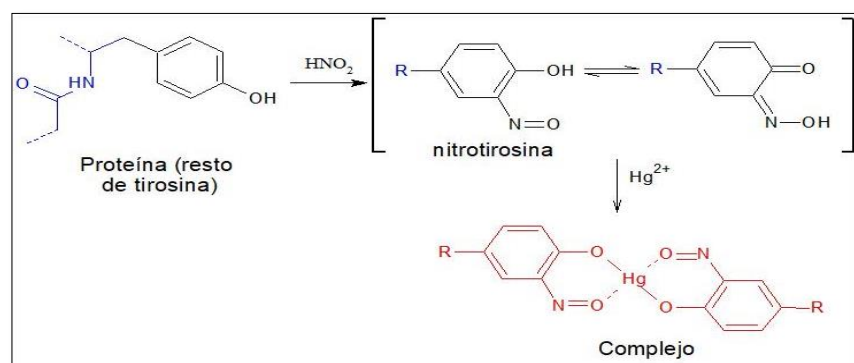


Figura 7. Formación del complejo (sal mercúrica) a partir de una proteína con restos de tirosina. Recuperado de <http://www.biochemden.com/color-reactions-of-amino-acids/>

- Reacción Xantoproteica.

Es un reactivo a base de ácido nítrico que sirve para la identificación de proteínas con grupos aromáticos que son derivados del benceno como la fenilalanina, tirosina y triptófano, mediante la formación de compuestos nitrados amarillos. La intensidad del color amarillo se intensifica cuando la reacción ocurre en una solución básica. Los aminoácidos tirosina y triptófano contienen anillos de benceno activados y se someten fácilmente a la nitración, mientras que la fenilalanina no se somete fácilmente a la nitración, debido a que el anillo no está activado

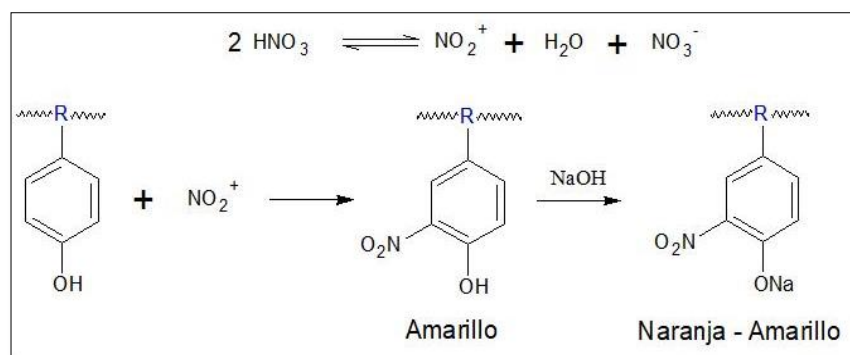


Figura 8. Formación de productos nitrados a partir de aminoácidos con grupos aromáticos. Recuperado de <http://www.biochemden.com/color-reactions-of-amino-acids/>

- Prueba de Sakaguchi.

Esta prueba es específica para Arginina o proteínas que la contienen. Es positiva para el aminoácido que contiene el grupo guanidina en la Arginina. El grupo guanidina presente en el aminoácido reacciona con α -naftol e hipobromito alcalino para dar un complejo de color rojo.

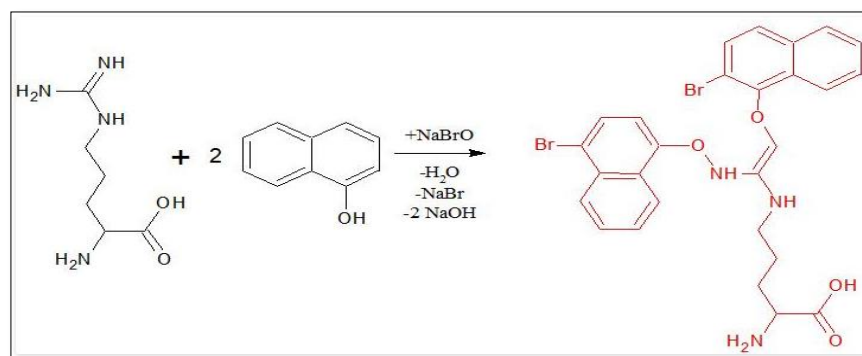


Figura 9. Reacción del grupo guanidina con α -naftol Recuperado de <http://www.biochemden.com/color-reactions-of-amino-acids/>

- Prueba de aldehído – Hopkin-Cole

Es específica para el triptófano, el único aminoácido que contiene un grupo de indol. El anillo de indol reacciona con el ácido glioxílico en presencia de un ácido fuerte (ácido sulfúrico) para formar un producto cíclico color violeta. El reactivo Hopkins-Cole solo reacciona con proteínas que contienen triptófano. La solución de proteína se hidroliza mediante el ácido sulfúrico concentrado en la interfaz de la solución. Una vez que el triptófano está libre, reacciona con el ácido glioxílico para formar el producto de color violeta (en forma de anillo).

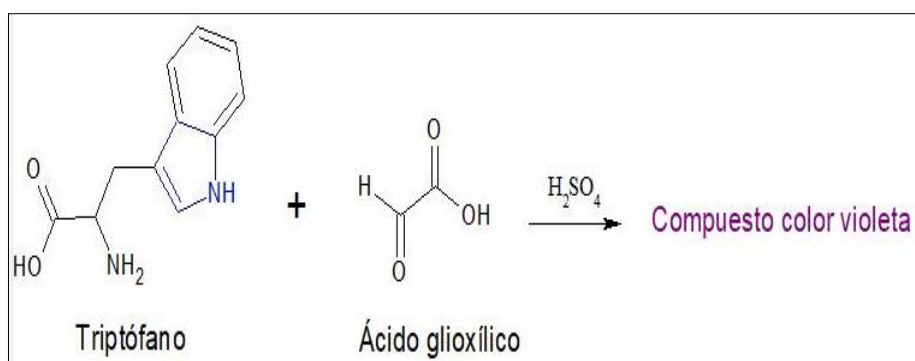


Figura 10. Reacción del grupo indol del triptófano con un aldehído. Recuperado de <http://www.biochemden.com/color-reactions-of-amino-acids/>

- Prueba de nitropusiato.

Es específico para aminoácidos o proteínas que contienen azufre, -SH (cisteína y cistina) da un color rojo-púrpura llamado “prueba de Mörner”.

Las proteínas de la leche sufren cambios físicos, químicos y coloidales según el tipo de proceso a la que es sometido: cocción, homogenización, fermentación, maduración, coagulación, deshidratación, etc., es de suponer que estos cambios por más pequeños que sean originen pérdida de las propiedades nutrasepticas.

2.2.8. Espectro electromagnético

Al flujo saliente de energía de una fuente en forma de ondas electromagnéticas se le denomina **radiación electromagnética**. Esta radiación puede ser de origen natural o artificial.

El espectro electromagnético es el conjunto de todas las frecuencias (número de ciclos de la onda por unidad de tiempo) posibles a las que se produce radiación electromagnética. Así, el límite teórico inferior del espectro electromagnético es 0 (ya que no existen frecuencias negativas) y el teórico superior es ∞ . Con los medios técnicos actuales, se han detectado frecuencias electromagnéticas inferiores a 30 Hz y superiores a $2,9 \cdot 10^{27}$ Hz.

a) División del espectro electromagnético

El espectro electromagnético se divide convencionalmente en segmentos o bandas de frecuencia. Esta división se ha realizado en función de diversos criterios, y en todo caso no es exacta, produciéndose en ocasiones solapamientos en las bandas, pudiendo una frecuencia quedar por tanto incluida en dos rangos (por ejemplo, debido a diferentes fenómenos físicos que originan la radiación, o a diferentes aprovechamientos de la energía radiada a una frecuencia concreta). La clasificación más típica del espectro electromagnético establece las siguientes categorías de radiación electromagnética, mostrados en la siguiente figura:

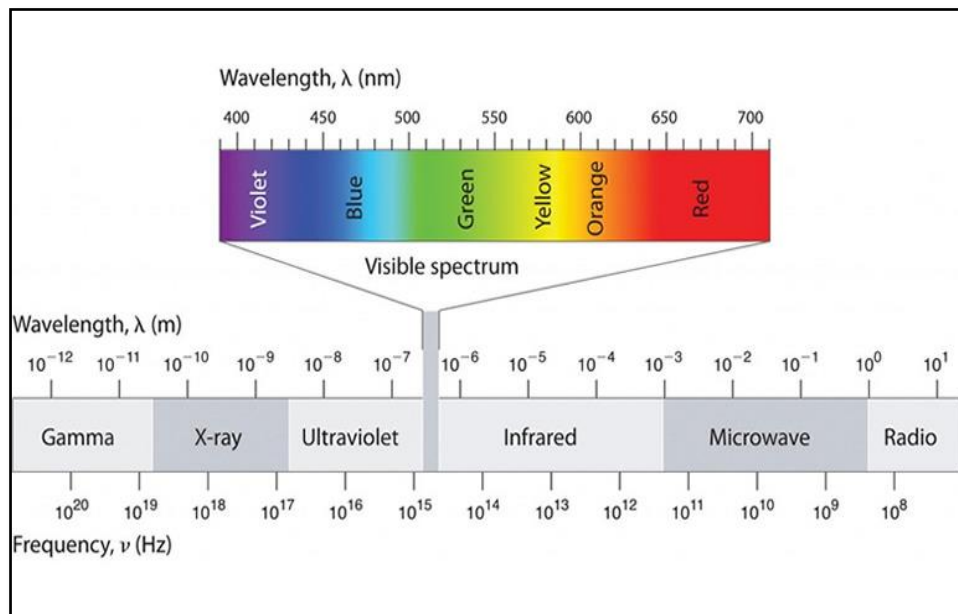


Figura 13. División del espectro electromagnético. Recuperado de: https://www.acta.es/medios/articulos/ciencias_y_tecnologia/062017.pdf

✓ Microondas

Las microondas son ondas de radio de alta frecuencia (campos de radiofrecuencia) y como la radiación visible (luz), son parte del espectro electromagnético. Las microondas son usadas en telecomunicaciones y en la industria para procesar materiales, en medicina para el tratamiento por diatermia y en las cocinas para la preparación de los alimentos.

Las microondas son reflejadas, transmitidas o absorbidas por los materiales en sus trayectorias, de manera similar a la luz. Los materiales metálicos reflejan totalmente las microondas mientras que los materiales no metálicos como el vidrio y algunos plásticos son mayormente transparente a las microondas. Los materiales que contienen agua, por ejemplo los alimentos, los fluidos o los tejidos, rápidamente absorben la energía de las microondas, la cual después es convertida en calor.

✓ Efecto del uso de microondas en los alimentos

Los microondas domésticos operan en frecuencias de 2450 MHz en el rango de energía de 500 a 1100 vatios. Las microondas son producidas por un tubo electrónico llamado magnetrón. Una vez que el horno es encendido, las microondas se dispersan en la cavidad del horno y son reflejadas por un ventilador agitador de modo que las microondas sean

propagadas en todas las direcciones. Son reflejadas por las partes de metal de la cavidad del horno y absorbidas por el alimento. La uniformidad del calentamiento del alimento es usualmente asistido colocando al alimento sobre una plataforma rotatoria en el horno. Las moléculas de agua vibran cuando absorben la energía del microondas y la fricción entre las moléculas resulta en el calentamiento que cocina el alimento. El diseño de los hornos microondas asegura que las microondas estén contenidas dentro del horno y puedan solo estar presentes cuando el horno es encendido y la puerta cerrada. La fuga alrededor y a través de la puerta de vidrio esta limitado por el diseño a un nivel muy por debajo de los recomendados por los estándares internacionales.

A diferencia de los hornos convencionales, las microondas son absorbidas solo en el alimento y no en los contornos de la cavidad del horno. Solo los platos y contenedores específicamente diseñados para cocinar en el microondas deberían ser usados. Ciertos materiales, como plásticos no adecuados para el horno microondas, podrían derretirse o explotar en llamas si se recalientan. Las microondas no calientan directamente los contenedores de alimento que están diseñados para cocinar en microondas. Estos materiales usualmente se calientan solamente por estar en contacto con el alimento caliente.

✓ **Daños de los microondas causados en alimentos**

- El calentamiento de alimentos por microondas resulta de la conversión de la energía de microondas en calor por la fricción de las moléculas de agua que vibran debido a la fluctuación rápida del campo electromagnético, por esta vibración el agua del alimento se evapora llevando proteínas solubles (Potter y Hotchkiss, 2015).
- Las vitaminas, minerales, proteínas y nutrientes son reducidos o alterados en los alimentos cocinados en el microondas. (Giese, 2015).
- Los minerales de los vegetales son alterados y convertidos a radicales libres cancerosos lo que causa crecimiento de tumores en el tracto digestivo (http://www.rrp.infim.ro/2015_67_2/A11.pdf).

- El consumo constante de estos alimentos calentados en microondas causa que las células cancerígenas se reproduzcan en la sangre, y causen alteraciones en el sistema inmunológico y linfático. (George y Bumett,, 2015).
- Si no existe la uniformidad del calentamiento, pueden aparecer los llamados “puntos fríos”, con el riesgo de dar lugar a una activación microbiana y los “puntos calientes” donde pueden tener lugar degradaciones térmicas excesivas en el valor nutritivo del alimento (Ohlsson, 2017).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Variables.

Manteniendo la potencia del microondas constante (700 Watts)

Variable independiente: tiempo de exposición de la leche (seg.)

Variable dependiente: estabilidad de la caseína

Variable interviniente: potencia

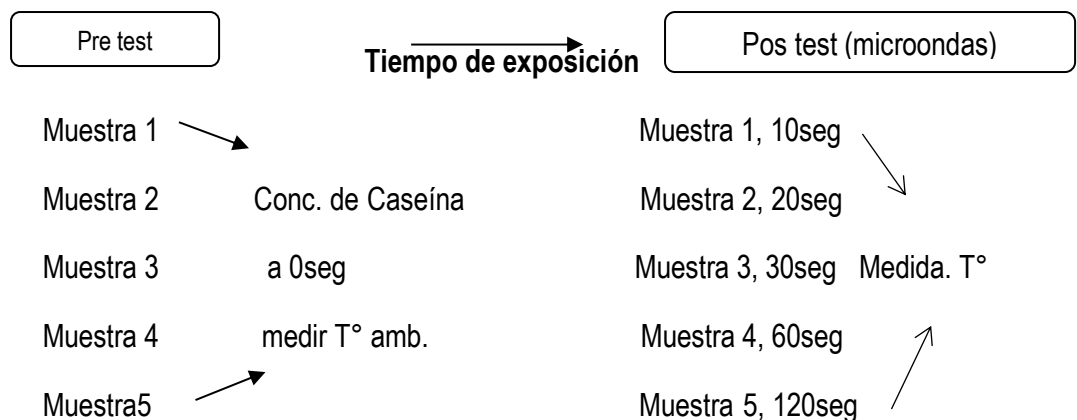
3.2. Hipótesis.

Las proteínas de la leche entre ellas la caseína pierde su estabilidad al ser calentadas en el horno microondas

3.3. Diseño de Contrastación.

DISEÑO CON GRUPO DE CONTROL PRE Y POST TEST O CLASICO

Manteniendo la potencia del microondas constante



Para contrastar la hipótesis se tomará en cuenta cinco diferentes tiempos de exposición, haciendo por cada tiempo 3 repeticiones.

3.4. Muestra, Materiales y Reactivos.

✓ Muestra

- 1 litro de leche de vaca adquirida en el mercado de Lambayeque, puesto N°2 a las 7 am

✓ Materiales:

- Tubos de ensayo
- Pipetas estériles
- Bureta graduada en 0.1 mililitros (ml).
- Matraz Erlenmeyer de 100 mililitros (ml)
- Pipetas de 10 mililitros (ml) y 5 mililitros (ml).
- Termómetro de -10 a 150 °C
- Vaso precipitado de 150 mililitros (ml)
- Centrífuga
- Un cronometro digital marca CASIO
- Embudo y Horno Microondas, marca IMACO. Con 700 Watts de potencia eléctrica.

✓ Reactivos:

- Alcohol etílico de 70°
- Reactivo de Biuret.
- Solución de hidróxido sódico al 0.1 Normal (0.1N)
- Solución comercial de formol (40%).
- Indicador: solución de fenolftaleína al 1 %.
- Agua destilada
- Ácido acético 1 molar (1M)
- Éter etílico

3.5. Métodos empleados

3.5.1. Prueba de estabilidad proteica

✓ Fundamento

Es una prueba muy útil que se realiza antes de empezar cualquier proceso de calentamiento o esterilización de la leche consiste en mezclar volúmenes iguales de leche y etanol de 70°, ya que el alcohol a esa concentración produce floculación o coagulación si es que la leche es muy ácida. La leche de buena calidad y fresca, no sufre ninguna

alteración. Por otro lado la formación de grumos o coágulos= POSITIVO, indicando la inestabilidad de la leche (Guille, 2008).

✓ **Procedimiento**

En un tubo de ensayo se colocó una alícuota 2 mililitros de leche y 2 mililitros de etanol de 70°, se tapó el tubo y se mezcló suavemente los líquidos invirtiendo el tubo de 2 a 3 veces, sin agitación.

Luego se inclinó el tubo en varias direcciones y se observó a contraluz si ha ocurrido floculación o coagulación de la mezcla.

3.5.2. Reconocimiento de proteínas con reactivo de Biuret

✓ **Procedimiento**

Se tomó en un vaso precipitado una alícuota de 5 mililitros de leche problema y se adicionó 2 mililitros de reactivo de Biuret gota a gota con agitación constante hasta que apareció un color violeta.

3.5.3. Método de Sorensen – Walker: cuantificación de proteínas

✓ **Procedimiento**

Se tomó una alícuota de 10 mililitros de leche problema en un matraz Erlenmeyer, luego se añadió 20 mililitros de agua destilada y se adicionó 3 gotas de fenolftaleína. A continuación se neutralizó la acidez titulable natural de la leche con la solución de hidróxido sódico hasta la aparición de un color rosa. (La acidez titulable corresponde al número de ml necesarios de la solución de hidróxido de sodio (NaOH) 0.1 Normal (0.1N) para neutralizar la muestra).

Posteriormente se adicionó a la leche neutralizada 2 mililitros. de formol para dejar libres los grupos carboxilos de los aminoácidos. Tras la adición del formol la muestra se vuelve a acidificar y tornándose nuevamente a color blanco, luego se añadió 3 gotas de fenolftaleína y se valoró la acidez con hidróxido sódico, hasta la aparición del color rosa.

✓ **Cálculo**

La cantidad de hidróxido de sodio 0.1N gastados en la segunda valoración se multiplican por 2.24, y el resultado se expresa como porcentaje de proteínas.

El contenido de caseína en la leche lo podemos calcular a partir de multiplicar el segundo valoración por 1.63 y el resultado se expresa como porcentaje de caseína

$$\% \text{ PROTEINAS TOTALES} = \text{GASTO}_2 \times 2.24 \dots \dots \dots (1)$$

$$\% \text{ CASEÍNA TOTAL} = \text{GASTO}_2 \times 1.63 \dots \dots \dots (2)$$

3.5.4. Aislamiento de caseína con ácido acético.

✓ Procedimiento

Se calentó en un vaso de precipitado 150 mililitros de agua destilada a 38°C, luego se añadió una alícuota de 50 mililitros de leche problema y gota a gota con agitación constante se adicionó ácido acético 1M hasta la formación de un precipitado blanco (leche cortada).

A continuación se centrifugó y se lavó el precipitado con 20 mililitros de etanol y 10 mililitros de éter etílico, Después se centrifugó nuevamente y se desechó el líquido quedando un precipitado blanco de fácil manipulación que es la caseína, se deja secar y se procede a pesar.

IV. RESULTADOS

4.1. Análisis de leche a temperatura ambiente (25°C)

4.1.1. Estabilidad proteica.

Tabla 9

Estabilidad de la proteína

Muestra	Vol. de alcohol (ml)	Vol. de leche(ml)	Resultado
1	2	2	negativo
2	2	2	negativo
3	2	2	negativo

Nota. Elaboración propia



Figura 14. Leche sin presencia de floculos o coágulos(-). Elaboración propia.

4.1.2. Del reactivo de Biuret

Tabla 10

Reconocimiento de proteínas con reactivo de Biuret

Muestra	Vol. De leche mililitros(ml)	Vol. de reactivo de Biuret. mililitros(ml)	Resultado
1	5	2	Positivo

Nota. Elaboracion propia



Figura 15. Observación de la aparición de un color violeta. elaboración propia.

4.1.3. Método de Sorensen – Walker y Aislamiento de caseína

Tabla 11

Propiedades físicas de leche Pre test a 25°C

Propiedades	Composición
Densidad	1.03 g/ml
PH	6.5
Color	Blanco

Nota. Elaboración propia

Tabla 12

Análisis de proteínas en la leche a Temperatura ambiente (25°C)

Muestras	Acidez (%)	Proteínas totales (%)	Caseína total (%)	Caseína total (gr;)
1	0.19	2.688	1.956	
2	0.19	2.912	2.119	
3	0.18	2.912	2.119	
X	0.187	2.837	2.065	1.17
σ^2	3.33333E-05	0.01672533	0.00885633	

Nota. Elaboración propia.

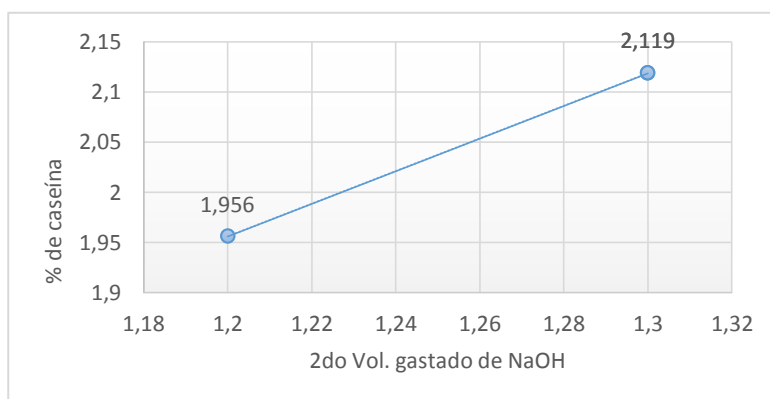


Gráfico 1. Porcentaje (%) de caseína vs Volumen de NaOH a temperatura ambiente. Elaboración propia.

4.2. Análisis de leche a diferentes tiempos de exposición al microondas

Tabla13

Análisis de proteínas en la leche con 10seg. de exposición al microondas a 29°C

Muestras	Acidez (%)	Proteínas totales (%)	caseína total (%)	Caseína total (gr.)
1	0.16	2.24	1.63	
2	0.16	2.24	1.63	
3	0.15	2.016	1.467	
X	0.157	2.165	1.576	0.98
σ^2	3.33333E-05	0.01672533	0.00885633	

Nota. Elaboración propia

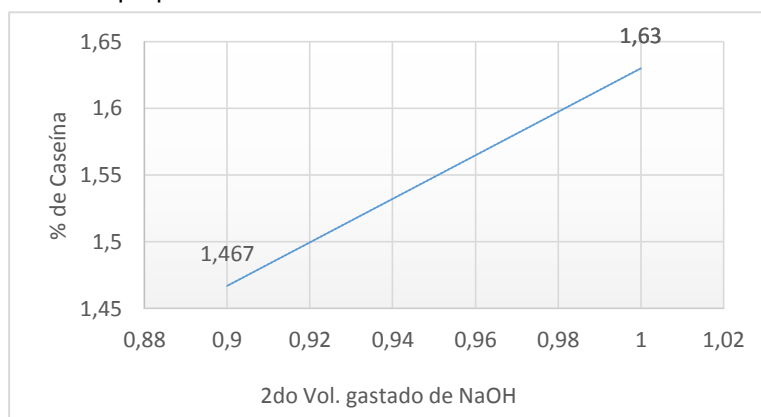


Gráfico 2. Porcentaje (%) de caseína vs volumen de NaOH, con 10 seg de exposición al microondas. Elaboración propia.

Tabla 14

Análisis de proteínas en la leche con 20seg. de exposición al microondas a 35°C

Muestras	Acidez (%)	Proteínas totales (%)	Caseína total (%)	Caseína total (gr.)
1	0.15	2.016	1.467	
2	0.16	2.016	1.467	
3	0.16	2.016	1.467	
X	0.157	2.016	1.467	0.96
σ^2	3.33333E-05	0	7.3956E-32	

Nota. Elaboración propia

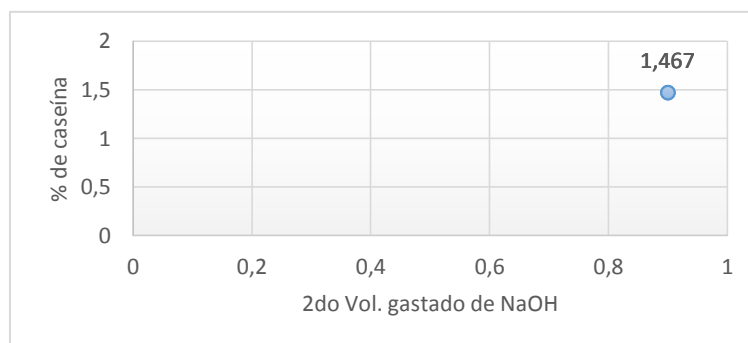


Gráfico3. Porcentaje (%) caseína vs Volumen de NaOH, 20 seg. de exposición. Elaboración propia

Tabla 15

Análisis de proteínas en la leche con 30seg. de exposición al microondas a 44°C

Muestra	Acidez (%)	Proteínas totales (%)	Caseína total (%)	Caseína total (gr)
1	0.16	1.792	1.304	
2	0.15	1.792	1.304	
3	0.16	2.016	1.467	
X	0.157	1.867	1.358	0.94
σ^2	3.33333E-05	0.01672533	0.00885633	

Nota. Elaboración propia

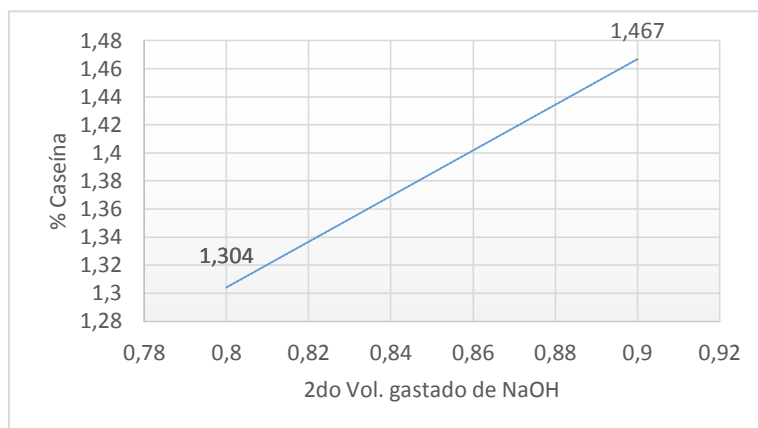


Gráfico 4. Porcentaje (%) de Caseína vs volumen de NaOH con 30 seg. de exposición. Elaboración propia.

Tabla 16

Resultados de análisis de proteínas de la leche con 60seg. de exposicion a 52°C

Muestras	Acidez (%)	Proteínas totales (%)	Caseína total (%)	Caseína total (gr.)
1	0.16	1.568	1.141	
2	0.15	1.568	1.141	
3	0.15	1.792	1.304	
X	0.153	1.643	1.195	0.93
σ^2	3.33333E-05	0.01672533	0.00885633	

Nota. Elaboración propia

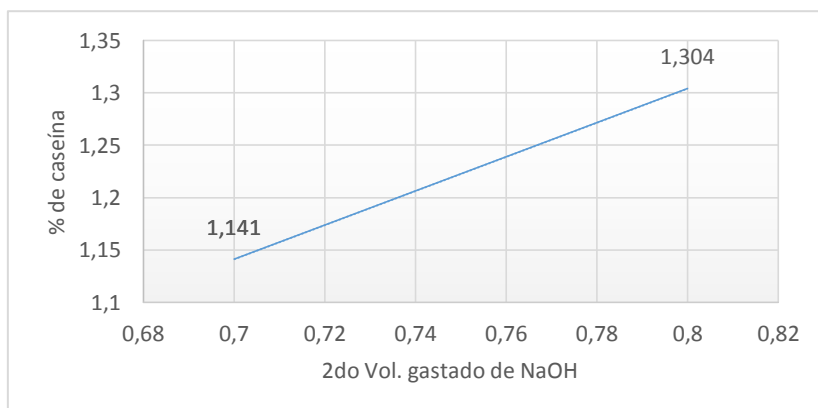


Gráfico 5. Porcentaje (%)de caseína vs Volumen de NaOH, con 60 seg. de exposición al microondas. Elaboración propia .

Tabla 17

Análisis de proteínas en la leche con 120seg. de exposición al microondas a 77°C

Muestras	Acidez (%)	Proteínas totales (%)	Caseína total (%)	Caseína total (gr)
1	0.16	1.12	0.815	
2	0.15	1.12	0.815	
3	0.16	0.896	0.652	
X	0.157	1.045	0.761	0.60
σ^2	3.33333E-05	0.01672533	0.00885633	

Nota. Elaboración propia

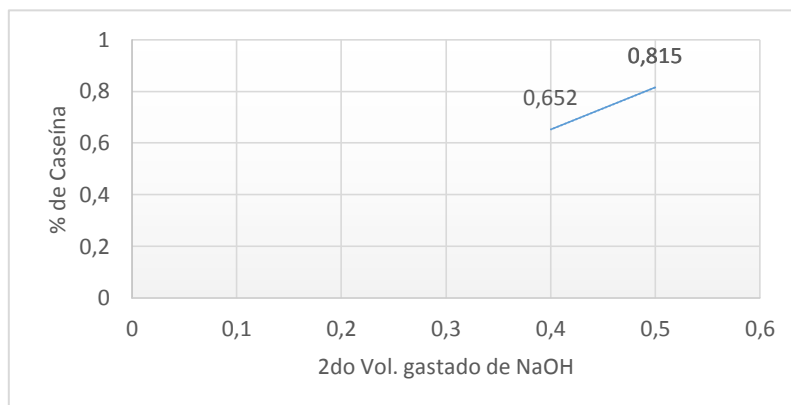


Gráfico 6. Porcentaje (%) de caseína vs Volumen de NaOH con 120 seg. de exposición. Elaboración propia.

Tabla 18

Resumen de resultados de los análisis de leche

	A temperatura ambiente (25°C)	Con exposición al microondas				
		10 seg.	20 seg.	30 seg.	60 seg.	120 seg.
X Caseína (%)	2.065	1.576	1.476	1.445	1.195	0.761
X Caseína (gr)	1.17	0.98	0.96	0.94	0.93	0.60

Nota. Elaboración propia

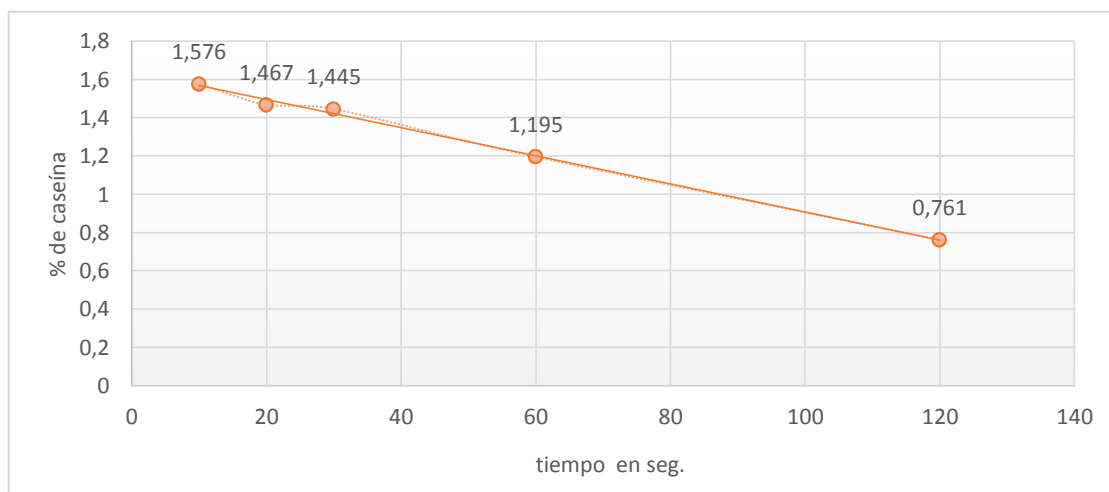


Gráfico 7. Porcentaje (%) de Caseína vs Tiempo de exposición al microondas. Elaboración propia.

V. DISCUSION

Los resultados de la tabla 9 sobre la estabilidad proteica de la leche está acorde con lo estipulado en el D.S 007-2017-MINAGRI: Reglamento de la leche y productos lácteos, referente a la prueba al alcohol, con resultado negativo: no coagulable.

Según el gráfico 7 el porcentaje de caseína en la leche fue disminuyendo (1.576 a 0.761) a medida que el tiempo de exposición en el microondas fue aumentando, esto confirma lo referido por Miller (2016) que las microondas debilitan la estructura secundaria de la proteínas porque le causan un especial plegamiento, la cual es importante para la estabilidad de la caseína frente a la desnaturalización por el calor. (p. 192,193).

En la tabla 18, los resultados están acorde con lo referido por (Cretescu et al .,2015 y Kheder et al .,2015) que las grasas, proteínas, sustancias secas y concentración de lactosa disminuyen a medida que el tiempo de exposición en el microondas aumenta, especialmente a 120 segundos , constituyendo un riesgo como alimento.

VI. CONCLUSIONES

Al realizar la prueba de estabilidad proteica el resultado fue negativo lo que indica la capacidad de la leche de resistir altas temperaturas sin presentar coagulación visible.

El contenido de caseína en la leche de vaca a temperatura ambiente (25°C), fue como promedio de 1.17gr de caseína (2.065%) con una varianza de 0.00885633 lo que nos indica la cercanía de los datos respecto al promedio.

A medida que el tiempo de exposición de la leche de vaca en el microondas se incrementa , la temperatura fue aumentando, y la concentración de la caseína disminuyendo ; a los 120 segundos alcanzo una temperatura 77°Cy una concentración promedio de caseína de 0.60g(0,761%) con una varianza de 0.00885633 confirmando la cercanía de los datos respecto al promedio .

VII. RECOMENDACIONES

- Aplicar métodos convencionales para evitar el uso del microondas.
- Trabajar en mejorar los análisis, comparándolo con resultados de otros métodos convencionales de calentamiento como: pasteurización, ultra pasteurización; para determinar cual método es más recomendable.
- Analizar con mayor detenimiento para saber si el calentamiento de la leche de vaca en el microondas aparte de disminuir el contenido de caseína total de la leche, genera sustancias perjudiciales para la salud por ejemplo: acrilamida, bisfenol.
- Determinar mediante electroforesis los tipos de caseína (alfa caseína, beta caseína y kappa caseína) al final del tratamiento por microondas.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Constantin, A. y Csatlos, C.(2010). Research on the influence of microwave treatment on milk composition. *Bulletin of the Transilvania University of Braşov* ,3 (52) .Recuperado de <https://pdfs.semanticscholar.org/601a/c552015a3138eac85270661669b52a86e657.pdf>
- Cretescu, I.; Caprita, R.; Ropciuc, S. Y Munteanu, O. (2015). Impact of microwaves on the physico-chemical characteristics of cow milk. *Romanian Reports in Physics* 67(2):423-430.Recuperado de http://www.rrp.infim.ro/2015_67_2/A11.pdf.
- Gille,J.(2008).Aseguramiento de la calidad sanitaria de la leche y los productos lácteos . Manual de prácticas,1-15 . Recuperado de <https://www.uaa.mx/centros/cca/MVZ/M/9/Manualdepracticasc4.pdf>
- Kheder, Z.; Ghanem, R.; Shukry, E.; El-Khawaga, E.; And Hassan, A. (2015) Effect of microwave on chemical characteristics of raw milk . *Egypt. J. Chem. Environ. Health*, 1 (1):492-502. Recuperado de <http://cehea.org/wp-content/uploads/2016/08/37-.pdf>
- Luque,O. (2017).*Espectro electromagnético y espectro radioelectrico .A.C.T.A.* Recuperado de https://www.acta.es/medios/articulos/ciencias_y_tecnologia/062017.pdf
- Miller, J. (2016). *Bioquímica de Proteínas 4 ed.* Madrid. España: Ed. COPIBOOK. S.L.
- MINAGRI .(2017).Estudio de la ganadería lechera en el Perú. Recuperado de [file:///C:/Users/USUARIO/Downloads/ganaderia-lechera-2017%20\(4\).pdf](file:///C:/Users/USUARIO/Downloads/ganaderia-lechera-2017%20(4).pdf)

- Herrera, J. (2015). Identificación y caracterización de la caseína en la leche y formulas lácteas. Recuperado de https://www.elconfidencial.com/alma-corazon-vida/2015-01-26/siete-razones-por-las-que-deberias-dejar-de-usar-el-microondas_629995/
- Pagador, A. (2014). Determinación de proteínas de la leche por el Método de Sorensen. Recuperado de <https://es.slideshare.net/CristhyBarretoRamos/determinacin-de-protenas-en-leche>.
- Perez, M.;Calvo,M.;Sanchez,L. y Franco,I.(2013).Efecto de las microondas sobre la lactoferina en formulas infantiles *RIDTEC* , 9(2). Recuperado de <https://www.researchgate.net/publication/295830168>.
- Potter, N; Norman, P. y Hotchkiss, H. (1995). *Ciencia de los alimentos en su: leche y proteínas lácteos* 5 ed. Zaragoza. España: Ed. Acribia.
- *Proyecto internacional CEM (2005).Campos Electromagnéticos & Salud Pública: Hornos microondas.* Recuperado de http://www.who.int/peh-mf/publications/facts/hornosmicr_hojainfoespagnol.pdf
- Rodríguez, E.(2012). *Caracterización de leches con diferentes grados de estabilidad proteica. (Tesis de grado).* Universidad Nacional de Colombia. Recuperado de <http://bdigital.unal.edu.co/9762/1/107511.2012.pdf>
- Lanzarini, Z (2016). *La caseína: contribución a su estudio químico e industrial.* Zaragoza. España. Editorial Acribia.

IX. ANEXOS

9.1. Proceso de experimentación

- Prueba de estabilidad proteica

• Reactivos



Figura 17. Alcohol de 70°. Elaboración propia

• Procedimiento.



Figura 18. Muestra de leche. Elaboración Propia



Figura 19. Medición de 2 ml de leche. Elaboración propia



Figura 20. Medición de 2 ml de alcohol. Elaboración Propia



Figura 21. leche sin presencia de coágulos. Elaboración propia.

- Prueba del reactivo de Biuret.

• Materiales y reactivos



Figura 22. Muestra de leche. Elaboración Propia



Figura 23. Reactivo de Biuret. Elaboración Propia

• Procedimiento



Figura 24. Adición de reactivo de Biuret. Elaboración propia



Figura 25. Observación de la aparición de un color violeta. Elaboración propia

- Método de Sorensen – Walker



Figura 26. Microondas.
Elaboración propia

• Procedimiento



Figura 27. Toma de muestras de leche.
elaboración propia



Figura 28. Exposición de la leche por
10seg. elaboración propia



Figura 29. Exposición de la leche por
20seg. Elaboración propia



Figura 30. Exposición de la leche
por 30seg. Elaboración propia



Figura 31. Exposición de la leche por 60seg.
Elaboración propia .



Figura 32. Exposición de la leche por 120seg.
Elaboración propia.



Figura 33. Leche a 25°C.
elaboración propia.



Figura 34. Leche a 77°C.
Elaboración propia.



Figura 35. Toma de muestra de leche de 10 ml.
elaboración propia

Este paso se hizo con todas las muestras después de ser expuestas al microondas. De cada uno de ellas se sacó por triplicado 10 mililitros de leche



Figura 36. Adición de 20 ml de agua destilada a cada muestra. elaboración propia

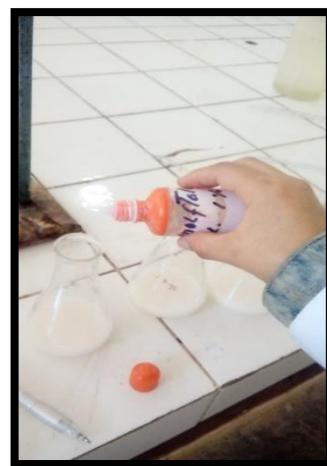


Figura 37. Adición de fenolftaleína a cada muestra. Elaborado por el autor



Figuras 38 y 39. Primera titulación con NaOH. Elaboración propia.



Figura 40. Adición de formol a las muestras. elaboración propia

Este paso se hizo con cada muestra para volver acidificarla, después de ser analizada su acidez



Figura 41. Muestras acidificadas. elaboración propia



Figura 42 y 43 . Segunda titulación con NaOH. Elaboración propia

- Aislamiento de caseína

- **Procedimiento**



Figura 44. Muestra de leche restante. elaboración propia

- Con cada muestra se siguió el siguiente procedimiento:



Figura 45. Mezcla de 150 ml de agua a 38°C y 50 ml de leche. Elaboración propia

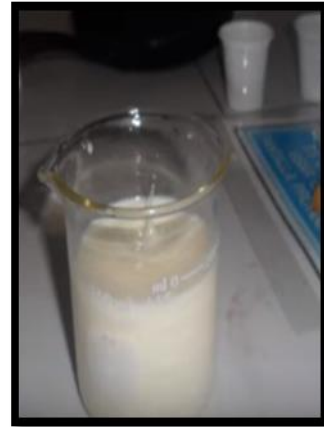


Figura 46. Adición de ácido acético gota a gota hasta que la leche llegue a un PH de 4.6. Elaboración propia



Figura 47. Leche cortada o a un PH de 4.6. elaboración propia

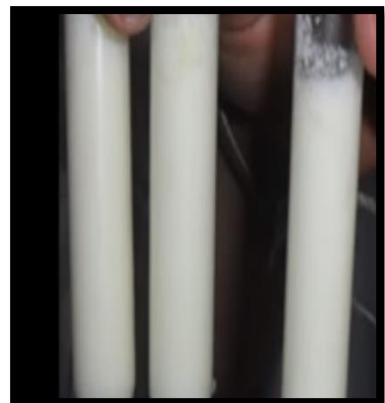


Figura 48. Separación de la leche cortada en tubos de ensayo. elaboración propia

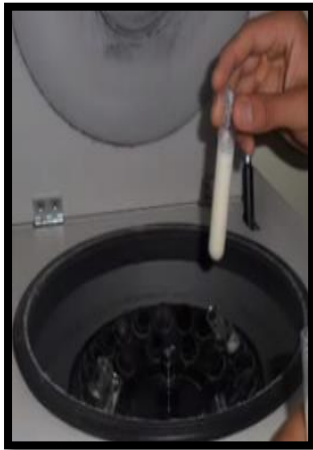


Figura 49. Primera centrifugación.
elaboración propia

Luego de la centrifugación
se procede a desechar el
suero para quedarnos sólo
con el precipitado

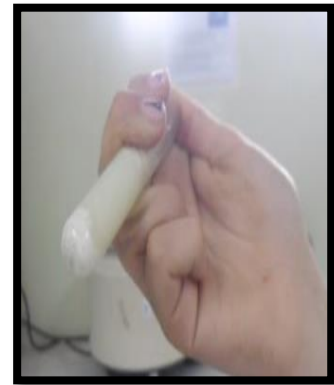


Figura 50. Precipitado
.Elaborado por el autor



Figura 51. Adición de 20 ml de
etanol y 10 ml de éter etílico al
precipitado. Elaboracion propia

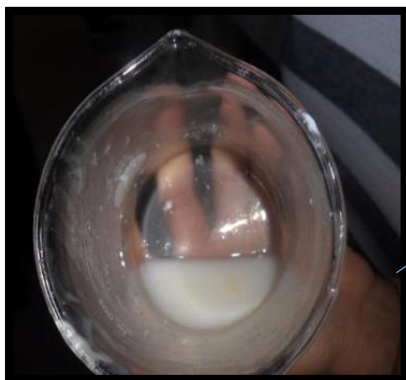
Este paso se hace para librar a la
caseína de sales, ácido y grasa



La purificación del precipitado con etanol y éter etílico se repite de 2 a 3 veces

Figura 52. Segunda centrifugación. Elaboración propia.

Luego de la centrifugación se desecha el etanol y éter etílico agregado



Dejar secar dicho sedimento para luego proceder al pesado

Figura 53. Unión del sedimento de caseína lavada en un vaso precipitado. Elaboración propia



Figura 54. Pesado de caseína. Elaboración propia .